

Diagnosticul prenatal și Diagnosticul genetic de preimplantare. Sindromul Down

I.) DIAGNOSTIC PRENATAL:

Prin Dg. prenatal se face investigarea embrionului intrauterin prin metode :

1.) **neinvazive:** *ecografia și fetoscopia, radiografia fetală, analize de sânge (markeri biochimici din sângele mamei - triplul test) ;*

*Folosirea acestor metode se mai numește **screening prenatal**. El doar sugerează posibilitatea unei boli. Punerea diagnosticului se face folosind alte metode mai precise, dar invazive.*

2.) **invazive:** *amniocenteza, biopsia de corion, analize genetice pentru diagnosticul genic, care pun deseori în pericol sănătatea și chiar viața embrionului.*

*Folosirea acestor metode invazive pun diagnosticul de boală , deci un **diagnostic prenatal**.*

*În toate aceste cazuri se urmărește stabilirea unor modificări genetice la cazurile cu risc în care au fost asemenea cazuri în familie. **Se urmărește eliminarea acestor tare genetice.**(1)*

1.) Teste neinvazive:

A.) Ecografia:

B.) Triplul test:

A.) ECOGRAFIA FETALĂ:

O ecografie fetală reprezintă un test efectuat în timpul sarcinii care utilizează fascicule de ultrasunete reflectate pentru a realiza o poza a fătului, a organului care înconjură fătul (placentei) și a lichidului care scaldă fătul (fluidului **amniotic**). Aceste fascicule de ultrasunete reflectate realizează o imagine care poate fi văzută pe un monitor. Imaginile, care pot fi și colorate sunt denumite sonograme, ecograme sau scanari și pot fi salvate ca și o parte a înregistrărilor copilului.

*Ecografia fetală reprezintă metoda cea mai sigură de a detecta afecțiunile fătului și pentru a obține informații despre făt, ca de exemplu mărimea și poziția. Nu se folosesc raze X sau alte tipuri de radiații care ar putea să dăuneze fătului. **Se poate realiza precoce din săptămâna a 5-a de sarcină.** Sexul fătului poate sa fie determinat câteodată în jurul săptămânii 18 de sarcină.*

În primul trimestru de sarcină (lunile 0-3), ecografia fetală este realizată pentru:

- determinarea evoluției sarcinii
- a determina dacă sarcina este multiplă sau nu
- estimarea vârstei gestaționale (vârsta fătului)
- **estimarea riscului de prezență a defectelor cromozomiale, ca de exemplu sindromul Down.**
- **identificarea malformațiilor congenitale care afectează creierul sau măduva spinării (spina bifida și anencefalia).**

În trimestrul al doilea de sarcină (lunile 3-6), - ecografia fetală este realizată pentru:

- a estima vârsta fătului (vârsta gestațională)
- aprecierea dimensiunii și poziției fătului, placentei și fluidului amniotic
- determina poziția fătului, cordonului ombilical și a placentei în timpul procedurilor gen amniocenteză sau a recoltării de sânger din cordonul ombilical
- **detectarea unei malformații congenitale, ca de exemplu defectul de tub neural sau al afecțiunilor cardiace.**

În al treilea trimestru de sarcină (lunile 6-9), ecografia fetală este realizată pentru:

- a se asigura ca fătul este viabil și mișcă
- aprecierea dimensiunii și poziției fătului, placentei și lichidului amniotic.

REZULTATE:

a.) Nu se cunosc riscuri asociate cu efectuarea ecografiei fetale, atât la mamă cât și la făt. Totuși, pot apărea simptome de anxietate dacă se depistează o afectare a sarcinii sau o malformație la nivelul fătului.

b.) Valori patologice (anormale):

- fătul crește mai încet decât în mod normal, are dimensiuni mici sau este subdezvoltat pentru vârsta sa
- fătul este anormal de mare pentru vârsta sa
- dacă aceste teste sunt realizate tardiv în timpul sarcinii, fătul este așezat în poziție cu fesele în jos (prezentare pelvină)
- **malformațiile congenitale, ca și absența rinichilor sau anencefalia sunt prezente**
- placentă acoperă colul uterin (placenta previa)
- uterul conține o cantitate prea mare sau prea mică de lichid amniotic
- sarcina se dezvoltă în exteriorul uterului (sarcina ectopică)
- sarcina conține țesut anormal în locul fătului normal (sarcina molară)
- frecvența cardiacă fetală nu este prezentă. Aceasta poate indica moartea fătului.

c.) Important :

- **rezultatele normale obținute la ecografia fetală nu garantează un copil normal, sănătos**

- medicul poate recomanda teste sau investigații suplimentare dacă rezultatele ecografiei fetale nu se încadrează în limite normale
- data probabilă a nașterii poate fi schimbată bazându-se pe efectuarea ecografiei precoce în timpul sarcinii în funcție de dimensiunile și dezvoltarea fătului
- **ecografia nu întotdeauna evidențiază malformațiile congenitale**
- în al treilea trimestru, ecografia fetală nu determină cu exactitate vârsta gestațională sau greutatea fătului
- efectele unei expuneri repetate a fătului la ultrasunete nu a fost determinată, totuși nu se recomandă ecografiile fetale repetate pentru motive nemedicale cum ar fi determinarea sexului fătului sau pentru obținerea de imagini pentru colecția personală
- **ecografia 3-D este testată pentru utilizarea în evaluarea anomaliilor fetale. Momentan nu este ușor disponibilă**
- **ecografia Doppler (sau scanarea duplex)** folosește fascicule de sunete reflectate pentru a estima viteza și direcția sângelui și a fluxului sanguin de la nivelul placentei la nivelul fătului. (2).

B.)TRIPLUL TEST:

a.) Ce este un triplu test?

Triplul test sau „testul markerilor serici”, adică din sânge, este o investigație folosită la începutul trimestrului II de sarcină (4-5 luni) și care **poate evidenția prezența unor afecțiuni genetice și anomalii congenitale la făt.**

Acest test face parte din **screeningul prenatal** și constă în determinarea unor analize din sângele matern, care se modifică semnificativ în sarcinile în care fătul are anumite anomalii congenitale: **defect de tub neural (spina bifida, anencefalia) sindrom Down, etc..**

Înainte de a discuta mai multe despre acest test, trebuie să se știe că **o modificare a acestuia nu semnifică neapărat prezența unei anomalii congenitale, având o valoare mai mult orientativă decât diagnostică.** În cazul în care triplul test este modificat, medicul specialist în sfat genetic va recomanda alte investigații care pot confirma sau respectiv infirma diagnosticul suspionat (de exemplu, amniocenteza sau ecografia).

În realitate doar 10% dintre gravidele cu valori anormale ale triplului test vor avea un copil cu o malformație genetică, specificitatea și sensibilitatea investigației fiind destul de mici.

Pe de altă parte un test negativ nu garantează 100% sănătatea viitorului copil, deoarece nu poate identifica decât o parte dintre bolile genetice.

Testul identifică într-un procent de 75-80% defectele de tub neural ale fătului (spina bifida, anencefalia) și 60% a sindromului Down, la gravidele cu vârste mai mici de 35 de ani.

La gravidele mai în vârstă de 35 de ani (grup cu risc crescut), testul identifică într-un procent de 75% defectele de tub neural și sindromul Down.

b.) Triplului test pozitiv:

Dintre toate gravidele testate, **3-5% vor avea un triplu test modificat (anormal)**, dar **numai 10% din acest procent vor avea un copil cu o malformație sau altă boală genetică**. Testul markerilor serici nu are valoare diagnostică, deoarece are multe rezultate fals pozitive.

Statisticile efectuate în toata lumea arată că testul merkerilor serici are o rată destul de mare de rezultate fals pozitive. De exemplu, din 1000 de femei care efectuează testul, aproximativ 25 vor prezenta modificări ale testului (test pozitiv), existând posibilitatea ca acestea să nască un copil cu defect de tub neural (anencefalie, spina bifida).

Dintre acestea, doar una sau două au într-adevăr un copil cu astfel de malformație genetică.

Pe de alta parte, un procent foarte mic dintre femeile cu test un normal, vor avea un copil cu sindrom Down.

c.) Ce măsoară triplul test?

Testul markerilor serici (triplul test) măsoară nivelurile sangvine materne ale **alfa-fetoproteinei (AFP)**, o proteină secretată în timpul sarcinii care este echivalentul fetal al albuminei și principala proteină din sânge în primele stadii de dezvoltare a fătului.

Gonadotrofina corionică umană (HCG) și estriolul neconjugat (uE3), sunt folosite de asemenea în triplul test.

În mod normal, în trimestrul II de sarcina, nivelul seric matern al alfa-fetoproteinei (AFP) și estriolului (uE3) neconjugat crește odată cu vârsta gestațională, iar cel al gonadotrofinei (HCG) corionice umane total, scade.

Unii specialiști folosesc încă un marker seric pentru screenigul prenatal, inhibina A (cvadruplul test) Determinarea inhibinei A, nu se face în toate spitalele dar se recomandă atunci când este posibil deoarece crește rata detecției sindromului Down până la 67-76%, la gravidele cu vârste mai mici de 35 de ani.

d.) când și cum se efectuează triplul test?

Testul markerilor serici se efectuează de obicei între săptămânile 15 și 20 de gestație (optim în săptămâna 16), atunci când valoarea markerilor este relevantă pentru un test real.

Se recoltează o mostră de sânge de la gravidă care va fi ulterior analizată la laborator.

Se determina concentrația sangvină a alfa-fetoproteinei (AFP), gonadotrofinei corionice umane (hCG), estriolului neconjugat (uE3) și eventual a inhibinei A, făcându-se o corelație între valorile acestora și unii factori personali.

Determinarea unor valori mai mari sau respectiv mai mici ale markerilor serici, semnifică prezența unui test anormal, pozitiv. Rezultatele sunt disponibile de obicei în 2 săptămâni și dacă sunt modificări vor fi necesare alte metode de diagnostic prenatal pentru confirmarea diagnosticului (ecografie, amniocenteza etc).

Amniocenteza poate determina cu precizie destul de mare prezența anomaliilor cromozomiale cel mai frecvent întâlnite la făt. Aceasta investigație se efectuează la gravidele cu risc între săptămâna 15-20 de sarcină, dar are un risc de 1 la 200 de a provoca avortul spontan. Cu toate acestea, ea poate să identifice anomaliile genetice ale fătului cu o precizie de peste 99%.

e.) Rezultate fals pozitive și fals negative:

Principalul dezavantaj al testul markerilor serici este acela ca de multe ori oferă rezultate fals-pozitive, care sporesc anxietatea gravidei și fac necesară efectuarea altor investigații pentru confirmarea sau respectiv infirmarea diagnosticului.

De asemenea nu se poate exclude nici un rezultat fals-negativ care liniștește gravida și nu recomandă efectuarea altor investigații, considerând că riscul apariției unei anomalii congenitale la făt este minim. În realitate însă aceasta poate să nască un copil cu anomalii genetice cromozomiale. (3).

1.) Teste invazive:

A.) Amniocenteza,

B.) Biopsia de corion,

C.) Analize genetice (dg. genic).

A.) AMNIOCENTEZA:

Definiție:

- este o procedură care face posibilă evaluarea stării de sănătate a fătului pentru depistarea diferitelor tipuri de defecte ereditare,
- Metoda constă în extragerea unei cantități mici din lichidul amniotic care înconjoară fătul din uter. Procedura se efectuează într-un spital de obstetrică-ginecologie, când vârsta sarcinii este de **16-18 săptămâni**. Înainte de aplicarea acestei proceduri, medicul face o scanare ultrasonografică, care evidențiază imagini ale uterului, placentei, lichidului amniotic și fătului,
- după vizualizare, medicul va introduce un ac extrem de fin, străbătând peretele abdominal al femeii, în uter, și va preleva aproximativ 20 ml de lichid amniotic. Aceasta etapă durează doar câteva minute. Unele femei spun ca amniocenteza nu doare deloc, altele simt o ușoară presiune,

După prelevarea probei, recipientele care o conțin se închid ermetic, se marchează și se trimit la laborator pentru testare și se face din nou ecografie. Complexitatea și numărul

analizelor la care sunt supuse celulele și lichidul amniotic sunt impuse de riscul fiecărei sarcini în parte.

Cele mai multe dintre femeile care decid să facă amniocenteza o fac pentru a evita nașterea unui copil cu anomalii cromozomiale .

Cromozomii sunt unități microscopice prezente în toate celulele corpului. Cei 23 de cromozomi prezenți în gameți (spermatozoid și ovul) conțin toată informația genetică necesară pentru ca ovulul fertilizat să se constituie într-o ființă umană. Un cromozom în plus sau în minus produce perturbări ale dezvoltării embriofetale.

Aproape întotdeauna aceste modificări conduc la defecte fizice grave, prezente încă de la naștere, și la întârzieri mentale. *Cea mai frecventă boală cromozomială este sindromul Down*, determinat de prezența unui cromozom adițional. Bolnavii cu acest sindrom au un aspect fizic caracteristic și grade diferite de întârzieri mentale.

Un alt risc pe care amniocenteza încearcă să-l depisteze la timp este apariția unor defecte congenitale ca, de exemplu, *bolile de inimă*. Celulele din lichidul amniotic descumate din tegumentele și mucoasele fătului sunt izolate și cultivate în condiții speciale și apoi testate în legătură cu prezența anomaliilor cromozomiale.

Într-un laborator standard, se pot detecta 99% din toate categoriile de anomalii. Rezultatele sunt comunicate gravidei după o perioadă de 2-3 săptămâni. Cuplul interesat poate solicita amniocenteza când sarcina prezintă un risc crescut de a se finaliza cu nașterea unui copil afectat de maladii genetice.

Amniocenteza semnaleză următoarele boli:

- 1.) Fibroza chistică,**
- 2.) Distrofia musculară Duchenne (DMD),**
- 3.) Hipercolesterolemia familială.**

Testul standard măsoară o proteină numită alfafetoproteină (AFP) și detectează aproximativ 99% din defectele tubului neural deschis. Rezultatul este disponibil într-o săptămâna sau mai puțin. Fiecare sarcină prezintă un risc de *3% de a se solda cu nașterea unor copii cu defecte congenitale de cauză necunoscută. Câteva exemple sunt hernia, întârzierea mentală nespecifică, majoritatea malformațiilor cardiace. Amniocenteza nu este în măsură să detecteze aceste tipuri de afecțiuni.*

Când recomandă medicul amniocenteza?

- la o vârstă de peste 35 de ani. Cu cât înaintează în vârstă, femeile riscă mai mult să dea naștere unor copii cu sindrom Down sau cu alte anomalii cromozomiale. În unele țări, amniocenteza se face tuturor gravidelor care au depășit vârsta de 35 de ani. Opțiunea pentru a efectua testul prenatal poate să aparțină și femeilor tinere,
- se știe ca un membru al familiei, o rudă apropiată, este purtătoare a unei anomalii cromozomiale, gravida riscă să nască un copil cu aceeași anomalie. În aceasta situație nu contează vârsta maternă și este recomandată amniocenteza pentru testarea cromozomilor,
- în istoricul familiei au existat boli genetice, dacă cineva din familie are sau a avut o boala genetică sau dacă părinții sunt purtători ai unei boli genetice, atunci riscul nașterii unui copil cu aceeași boală este semnificativ crescut,

- o rudă apropiată prezintă un defect de tub neural, riscul recurenței defectului respectiv este crescut. Analiza lichidului amniotic poate evidenția prezența defectelor de tub neural,
- când ecografia obișnuită trezește suspiciunea unui posibil defect, se recurge la examenele ecografice mai complexe, iar dacă acestea confirmă anomalia, se recomandă amniocenteza.

B.) BIOPSIA DE CORION (trofoblast sau vilozități coriale):

- este o altă metodă invazivă alături de amniocenteză,
- biopsia de vilozități coriale se efectuează între săptămânile 10 și 12 de gestație,
- deoarece este o manevră invazivă, există riscul să declanșeze un avort (între 0,5 și 2-4% din cazuri), de aceea sunt indicate când există suspiciune înaltă ca fătul să poarte o anomalie genetică. Analiza celulelor recoltate presupune identificarea anomaliilor cromozomiale sau a defectelor biochimice și moleculare.
- când testul este pozitiv, deci copilul are **Sindromul Down**, și familia alege să păstreze sarcina, se impune efectuarea unei ecografii fetale în săptămâna 20 de gestație pentru identificarea eventualelor malformații cardiace, ce apar frecvent în cadrul acestui sindrom. O nouă ecografie este indicată la 28-32 de săptămâni pentru evaluarea creșterii fetale și detectarea atreziei duodenale, altă entitate patologică frecventă, care necesită intervenție chirurgicală imediată. (4).

C.) Analize genetice (Diagnosticul genic):

În condițiile existenței unor laboratoare performante, în etapa actuală a dezvoltării geneticii, în cazul unor genitori cu risc real de boală ereditară la descendenți, se poate face apel și la acest diagnostic. Ca material de lucru se folosește în acest caz **ADN extras din celulele amniotice sau din trofoblast, deci utilizând una din metodele mai sus descrise, A sau B.**

Diagnosticul poate fi stabilit direct, prin metoda enzimelor de restricție, sau indirect, prin studiul polimorfismului fragmentelor de restricție. Prin metoda directă pot fi identificate prenatal **B-talasemia și hemoglobinoza S.** Cea de-a doua metodă permite depistarea unei mutații, în cazul unei gene necunoscute sau a existenței unei heterogenități moleculare. Metoda indirectă este deci utilă în identificarea delețiilor, duplicațiilor și substituțiilor de baze, în cazul unor boli genetice. Pot fi diagnosticate astfel **distrofia musculară Duchene, boala Huntington, situsul fragil X.**

Diagnosticul genic a devenit posibil foarte precoce, în stadiul preimplantariu - stadiu de 8 celule – (vezi mai jos Dg. de preimplantare), cu prelevarea de 1-2 celule. Prin această metodă a fost identificată una dintre mutațiile specifice **fibrozei chistice de pancreas** și, de asemenea, se poate **determina sexul**, important în profilaxia bolilor genetice recesiv X-lincate. (5)

II.) Diagnosticul genetic de preimplantare:

Dg. genetic al preimplantării este folosit de cuplurile cu risc crescut de transmitere a unui defect genetic, care doresc să se asigure de nașterea unui copil sănătos (!). **Această analiză genetică implică analiza a 1-2 celule, obținute prin biopsia unui embrion obținut IN VITRO.**

Deci, diagnosticul de preimplantare urmărește implantarea doar al embrionilor sănătoși, pe cei bolnavi îi elimină.

Se extrag din embrion 1-2 celule cu o micropipetă și se supun unui test genetic. Doar dacă nu se găsesc tare genetice acesta este reimplantat în uter. Dacă nu, el va fi distrus în uter, deci va fi avortat.

În iunie 1999 a fost legalizat în unele țări și trecut ca etic folosirea diagnosticului de preimplantare: Franța, Belgia, Olanda, SUA, Australia. Acum s-a extins și în alte țări europene.

1.) Biopsia embrionului:

- se poate efectua în diverse stadii de dezvoltare înaintea implantării, inclusiv de la primul corpuscul polar, blastomer, sau din celulele trofectodermului;
- cea mai utilă este biopsia blastomerelor (cea al corpuscului polar nepermițând o analiză a alelelor paternale). Cea mai utilă biopsie este la stadiul de opt celule (ziua a treia după inseminare).

2.) Analiza genetică:

Din cauza materialului genetic redus se folosesc metode mai sensibile:

- a.) reacția lanțului de polimerază (PCR) care este o **metodă in vitro folosită** pentru determinarea sintezei enzimatică a secvențelor specifice de ADN putând pune astfel în evidență o varietate de dezordini genetice, precum **distrofia musculară Duchenne, anemia sickle cell, hemofilia A, sindromul Lesch Nyhan, fibroza chistică, etc,**
- b.) hibridizarea fluorescentă *in situ* (FISH), tehnică ce poate fi utilizată atât pentru detectarea anomaliilor cromozomiale, cum ar fi schimbarea în număr și structură, inclusiv aneuploidia, poliploidia, deleția largă, inserția și translocația, cât și pentru identificarea de cromozomi sexuali în vederea determinării sexului. Astfel se pot pune în evidență boli ca **Sindromul Down, etc. (6).**



III.) Sindromul Down:

Ce este acest sindrom ?

Este unul dintre cele mai frecvente sindroame genetice, produs de o anomalie a cromozomului 21, de unde și denumirea de **Trisomie 21.**

Numai un sfert din feții purtători ai unui cromozom 21 suplimentar supraviețuiesc până la naștere, iar aceștia vor dezvolta o serie de tulburări de creștere și mentale a căror gravitate variază de la caz la caz.

Riscul de a avea un copil cu sindrom Down depinde de vârsta mamei: dacă până la 30 de ani creșterea este liniară, ulterior devine exponențială. Iată câteva cifre:

- la 20 de ani riscul este de 1 caz la 1600 de nașteri vii,
- la 25 de ani 1 caz la 1300,
- la 35 de ani 1 caz la 365,
- **la 40 de ani 1 caz la 90,**
- **la 45 de ani. 1 caz la 30 .**

Cuplurile care au deja un copil cu sindrom Down sau au fost diagnosticați cu o anomalie a cromozomului 21 prezintă risc suplimentar de a transmite această boală urmașilor. Diagnosticul prenatal este indicat atunci când riscul de a avea un copil afectat este mai mare decât riscul procedurii la care este supusa femeia însărcinată. Investigațiile pentru descoperirea sindromului Down la făt se împart în două categorii: prima se referă la triplul test efectuat pe sângele matern, pentru femeile sub 35 de ani și a doua la recoltarea de celule fetale prin biopsie de vilozități coriale sau prin amniocenteză, pentru femeile peste 35 de ani.

Triplul test se efectuează între săptămânile 16 și 18 de gestație și constă în măsurarea nivelelor de alpha-fetoproteina (AFP), gonadotropina corionică umană (hCG) și a estrogenilor liberi din sângele mamei. AFP este produsă de ficatul fetal, iar hCG și estrogenii liberi de către placenta.

De-a lungul perioadei de gestație aceste proteine se găsesc în concentrații diferite, în funcție de vârsta sarcinii.

În cazul trisomiei 21, AFP și estrogenii liberi sunt cu 25% mai scăzuți în trimestrul al-II-lea, iar hCG este de 2 ori mai mare. Triplul test poate detecta aproximativ 60% din sarcinile afectate de trisomia 21, cu rezerva că există cam 5% șanse ca testul să fie pozitiv, dar fătul să fie sănătos. De aceea, un test pozitiv este o indicație pentru amniocenteză. În plus, un test negativ înseamnă că riscul ca fătul să aibă trisomie 21 este redus, dar nu este exclusă cu certitudine această posibilitate. *Sensibilitatea testului este crescută prin utilizarea ecografiei fetale, care detectează o serie de anomalii suplimentare și poate estima vârsta gestațională. (7)*

Anumite semne, markeri ecografici, pot sugera prezența sindromului Down:

- *prezența chistului plexului coroid* (formațiune tumorală, sferică regăsită în anumite regiune a encefalului)
- *calcificări focale intramusculare la nivelul cordului*
- *pielectazii (malformații ale rinichiului)*
- *translucența nuchală modificată (îngroșarea regiunii cefei)*
- *femur fetal scurt*
- *hiperrecogenitatea intestinului (care semnifică anomalii ale sistemului digestiv, precum gastroschizisul - localizarea intestinelor înafara abdomenului) (8).*

CONCLUZII:

Dr. Todea-Gross Christa:

„Indicarea selectivă a avortului terapeutic” sau „eliminarea tarelor genetice” sunt doar doi termeni din cei mulți folosiți astăzi de către medici ginecologi, embriologi, geneticieni, cercetători, etc. Aceste „manevre moderne” ne duc cu gândul înapoi într-o eră a rasismului, a intoleranței omului „imperfect”, nelăsând nici o șansă unui suflet nevinovat, dar cu un trup mai bolnav, să se nască.

Un medic creștin nu va putea pune problema niciodată în acest mod reductionist și antiuman, știind că fiecare suflet este creat de Dumnezeu și doar El decide când este momentul să-l ia din nou la El.

Fac un apel la toți medicii din România (și nu numai), să înceteze să „selecteze” doar copii sănătoși și să-și dea consimțământul la cel mai mare păcat: PRUNCUCIDAREA, indiferent de momentul în care acest lucru se întâmplă, la o oră, la 7 zile, la două luni sau mai multe înainte de naștere! Pe toți îi va urmări până la moarte o conștiință încărcată de acest mare păcat!